Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Article
Vol. 17, No.2, 2025, p. 205-216

Bioinformatics Analysis of Whole Genome Sequencing Data to Estimation of Genomic Inbreeding Coefficient and Identification of Runs of Homozygosity Islands in Pekin Duck

Hossein Mohammadi[1*], Amir Hossein Khaltabadi Farahani[1]

1- Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran.
*Corresponding Author's Email: H-mohammadi64@araku.ac.ir

Received: 18-10-2024 Revised: 13-12-2024 Accepted: 22-02-2025 Available Online: 22-02-2025	**How to cite this article:** Mohammadi, H., & Khaltabadi Farahani, A. H. (2025). Bioinformatics analysis of whole genome sequencing data to estimation of genomic inbreeding coefficient and identification of runs of homozygosity islands in Pekin duck. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *17*(2), 205-216. (in Persian with English abstract) http://doi.org/0.22067/ijasr.2025.90291.1220

Introduction: Ducks are more resilient to unfavorable environmental conditions than other poultry, making them less susceptible to disease. They are easy to raise and exhibit rapid growth. To meet the needs of industrial duck production, it is essential to develop meat, egg, and dual-purpose strains. This will help determine breeding costs and ensure the productivity required by the industry. High weight gain, a lower food conversion ratio, more eggs, and high egg fertility are the four main ways that the breeding population and herds should be taken into consideration, in accordance with the significance of the economic coefficients of breeding and the relative selection of the product. Designing breeding programs for ducks requires first identifying the genomic region linked to economic traits in duck populations. The management and breeding sciences should pay attention to the negative correlation coefficient with the egg production trait because a rise in one trait will result in a fall in the values of another trait. Molecular biology and biotechnology have made significant strides in recent years, giving researchers a potent tool for studying animal genetics. Decoding the genome information of this species has been made possible by powerful tools like next-generation sequencing technology. Following one another is known as a run of homozygosity (ROH). In light of this research, the current study sought to use whole genome sequencing data to identify the loci linked to the duck's egg production trait by performing an inbreeding coefficient, identifying the ROH Islands, and performing a functional analysis based on gene-set enrichment analysis.

Materials and Methods: There were 581 purebred Peking ducks used in this study. The animals hatched from the same batch and are of the same strain. Pronase was used to extract genomic DNA. A wavelength of 260 nm was used to measure the amount and concentration of DNA, and a wavelength ratio of 260/280 was used to assess the purity and quality of the extracted DNA. All of this information was obtained using a spectrophotometer. On the DNBSEQ-T7 platform, this DNA sample was subjected to whole-genome resequencing using a 150 bp paired-end read strategy and an average sequencing depth of 2.06×. To conduct additional analysis, the acquired reads were

http://doi.org/0.22067/ijasr.2025.90291.1220

compared to the reference genome of the mallard duck. Using VCFtools (--min-alleles 2, --max-alleles 2) and PLINK (--geno 0.05 --maf 0.01 --mind 0.05), we implemented quality control to guarantee data quality. 581 individuals and 1,111,649 SNPs were retained for additional analysis following quality control. Run of homozygosity (FROH) was used to compute the inbreeding coefficient using the PLINK 1.9 program. A ROH Island was defined as one percent of the SNPs with the highest frequency in ROH. Assigning SNPs to genes, assigning genes to functional categories, and then analyzing the relationships between each functional category and the desired phenotype comprise the three main steps of gene set analysis analysis. To assign the genes to functions, a gene enrichment analysis was finally carried out using the DAVID software.

Results and Discussion: Based on FROH, the average pekin duck inbreeding coefficient was 0.204. There were 82,253 ROH segments found in all, with an average of 141 point 50 segments per person. ROH that consisted primarily of shorter segments (1–2 Mb) made up roughly 77–85% of all ROH. The larger ROH (>2 Mb) class, on the other hand, only made up 22–15% of all ROH segments. Chromosome 1 exhibited the highest ROH (Runs of Homozygosity) value, while chromosome 31 showed the lowest. The 91 identified ROH islands covered less than 1% of the sheep genome, with lengths ranging from 1.60 to 13 Mb. These ROH islands were located across nine genomic regions on chromosomes 1, 2, 3, 4, 5, 8, 13, 29, and 35. In this study, we discovered several sets of candidate genes associated with the duck egg production trait: COL1A2, FCHSD2, DAZAP1, and NSG1. Pathway analysis revealed that the egg production trait was linked to ten biological and gene ontology pathways. Certain genes were discovered to be involved in biological pathways linked to skeletal muscle growth and development, positive regulation of skeletal muscle fiber development, negative regulation of negative chemotaxis, release of sequestered calcium ions into the cytosol, and cellular response to hormone stimulus. These findings are in line with some earlier research. taking into account that the economic coefficient of duck egg production is very significant and more significant than the weight increase of breeding ducks and economic activity.

Conclusion: The findings of this study showed that the Pekin duck breed's selection processes for economic traits over a number of years have resulted in the formation of numerous ROH islands in the duck genome. As a result, scanning these regions at the genome level may be an alternate method of identifying genes and related loci with economic traits. Additionally, our findings aid in the design and implementation of breeding and conservation strategies for study ducks, as well as the understanding of genetic diversity and population demography.

Keywords: Candidate gene, Genomic data, GO Analysis, Pekin duck, Selection sweeps

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۱۷، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۴، ص. ۲۱۶-۲۰۵

بررسی بیوانفورماتیکی داده‌های توالی‌یابی کل ژنوم در اردک پیکین به‌منظور تخمین میزان ضریب هم‌خونی ژنومی و شناسایی جزایر الگوهای هموزیگوسیتی

حسین محمّدی*[۱]، امیر حسین خلت‌آبادی فراهانی[۱]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۷/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۰۴

چکیده

در گله‌های اردک همچون سایر گونه‌های دامی، شناسایی مناطق ژنومی مؤثر بر صفات مهم اقتصادی امری ضروری محسوب می‌شود. در این راستا، هدف از پژوهش حاضر، برآورد میزان ضریب هم‌خونی ژنومی و تجزیه و تحلیل عملکردی مناطق ژنومی کاندیدای مرتبط با تعداد تخم در اردک می‌باشد. در مجموع، از اطلاعات انفرادی ژنومی ۶۳۰ اردک که به‌وسیله پلتفرم DNBSEQ-T7 توالی‌یابی شده بودند، استفاده گردید. تخمین ضریب هم‌خونی، از طریق الگوی هموزیگوت ژنومی با برنامه PLINK محاسبه شد. به‌عنوان پیش‌فرض، یک درصد از نشانگرهای SNP با بالاترین فراوانی در قطعات هموزیگوت به‌عنوان جزایر ROH در نظر گرفته شدند. در نهایت، آنالیز غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی با استفاده از برنامه آنلاین DAVID انجام شد. نتایج این مطالعه نشان داد که میزان ضریب هم‌خونی محاسبه‌شده با الگوی هموزیگوسیتی ۰/۲۰۴ در اردک‌های پیکین می‌باشد. میانگین تعداد و طول ROH محاسبه‌شده در اردک‌ها برابر با ۱۴۱ و ۱/۵۲ مگاجفت‌باز نوکلئوتیدی در هر پرنده بود. همچنین، مجموع ۹۱ جزیره ROH با طول ۱/۶۰ تا ۱۳ مگاباز شناسایی شد. توزیع جزایر ROH در سرتاسر ژنوم یکنواخت نبود، به‌طوری‌که بیشترین و کمترین تعداد جزایر ROH به‌ترتیب روی کروموزوم‌های شماره ۱ و ۳۱ مشاهده شدند. در تفسیر مجموعه‌های ژنی، تعداد ۱۰ مسیر هستی‌شناسی ژنی و بیوشیمیایی شناسایی شد. بررسی ژن‌های گزارش‌شده در این مناطق نشان داد که ژن‌های *COL1A2*، *FCHSD2*، *DAZAP1* و *NSG1* عملکردهای مهمی را در ارتباط با فرآیند تخمک‌اندازی، تشکیل پوسته تخم و فسفریله کردن گلیکوپروتئین‌ها بر عهده دارند. ژن‌های متعددی که در نواحی شناسایی‌شده براساس عملکرد می‌توانند به‌عنوان کاندیداهای تحت انتخاب مطرح باشند. به هر حال، بررسی بیشتر ژن‌های مرتبط با مناطق ژنومی به‌دست‌آمده از مطالعات جستجوی پویش کل ژنومی ضروری است. استفاده از یافته‌های این تحقیق می‌تواند در درک سازوکار ژنتیکی کنترل‌کننده صفت تعداد تخم تولیدی مورد استفاده قرار گیرد، به‌طوری‌که در انتخاب ژنتیکی اردک از طریق پرندگان برتر، باعث تسریع در پیشرفت ژنتیکی برنامه‌های اصلاح نژادی شود.

واژه‌های کلیدی: آنالیز هستی‌شناسی، داده‌های ژنومی، ژن کاندیدا، نشانه‌های انتخاب

مقدمه

در سال‌های اخیر در کشورهای مختلف، گونه اردک به‌عنوان دومین پرنده اقتصادی گونه ماکیان بعد از مرغ پرورش داده می‌شود (Sun *et al.*, 2024). سودآوری در صنعت تولید و پرورش اردک به هزینه‌های ورودی و خروجی بستگی دارد. بنابراین، بهبود بازده خوراک، مقدار غذای مورد نیاز برای رشد، هزینه تولید و مقدار ضایعات نیتروژنی را کاهش خواهد داد (Zhou *et al.*, 2018).

اردک‌های نژاد پیکین یکی از نژادهای تجاری معروف دو منظوره و با تولید بالای تخم و کارآیی خوراک مصرفی می‌باشد (Liu *et al.*, 2021a). این نژاد در اصل از کشور چین سرچشمه می‌گیرد و به‌دلیل گوشت لذیذ و با کیفیتش، در بسیاری از کشورهای جهان به‌ویژه در ایالات متحده، به‌طور گسترده پرورش داده می‌شود (Zhu *et al.*, 2020) اردک پیکین دارای بدنی بزرگ با پرهای سفید خالص و پاها و نوک نارنجی است. این اردک‌ها به‌دلیل رشد سریع و تولید گوشت زیاد و قابلیت جوجه‌درآوری مناسب، انتخابی ایده‌آل برای پرورش‌دهندگان هستند. علاوه‌بر این، اردک‌های پیکین به‌دلیل طبیعت آرام و سازگار

۱- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، اراک، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: H-mohammadi64@araku.ac.ir).
http://doi.org/0.22067/ijasr.2025.90291.1220

خود، در میان پرورش‌دهندگان نیز محبوبیت بالایی دارند (Yu *et al.*, 2024).

با پیشرفت‌های اخیر در تهیه تراشه‌های SNP طیور و استفاده از چندشکلی در تک نوکلئوتیدی‌ها به عنوان نشانگر، امکان پوشش کامل ژنوم و نقشه‌یابی با وضوح بالاتر که با روش‌های پیشین از قبیل نشانگرهای ریزماهواره و یا سایر نشانگرهای بیولوژیکی مقدور نبود، امکان‌پذیر گردید که بهبود صحت مکان‌یابی QTLها و نواحی ژنومی مؤثر بر صفات تولیدی را در پی داشته است. استفاده از داده‌های کل ژنوم یا به‌طور کلی داده‌های DNA و به‌کارگیری آن می‌تواند زمینه‌ساز ورود به عصر پساژنومی در اصلاح نژاد پرندگان اهلی گردد (Li *et al.*, 2024).

شاخص قطعات هموزیگوت ژنومی (ROH)[1] یکی از ابزارهای نوین پرکاربرد، برای ارزیابی هم‌خونی ژنومی براساس داده‌های توالی‌یابی‌شده در سراسر ژنوم جمعیتی است. ROHها، در واقع قطعاتی از جنس نوکلئوتید در سطح ژنوم می‌باشند که یکسان اجدادی هستند و از طریق جد مشترک به ارث می‌رسند و در طول زمان، با دور شدن از جد مشترک در اثر پدیده نوترکیبی شکسته می‌شوند (Gomez-Raya *et al.*, 2015). قطعات ROHها، به‌طور یکنواخت در سطح ژنوم توزیع نشده‌اند و در برخی از مکان‌های کروموزومی بیشتر دیده می‌شوند که به آن‌ها جزایر ROH[2] یا نقاط داغ ROH گفته می‌شود. این مناطق، در طول زمان تحت اثر انتخاب مداوم شکل گرفته‌اند که منجر به تثبیت برخی از آلل‌ها در جمعیت در اثر فرآیند نشانه‌های انتخاب می‌شوند (Addo *et al.*, 2021).

قطعات ROH، با طول نوکلئوتیدی بلند و کوتاه به‌ترتیب، بیانگر وقوع هم‌خونی‌های اخیر و هم‌خونی اجداد است. به عبارت دیگر، ROH کوتاه‌تر نشان‌دهنده از بین رفتن تنوع ژنتیکی است. همچنین، -ROHهای طولانی به احتمال زیاد در مناطق با نوترکیبی پایین و مکان‌های تحت انتخاب در ژنوم یافت می‌شوند. قطعات ROH اطلاعات ژنومی در خصوص تخمین تاریخچه تکاملی، برآورد سطح خویشاوندی و نشانه‌های انتخاب در جمعیت را فراهم می‌کند (Liu *et al.*, 2021b). ضریب هم‌خونی براساس چهار روش، Run Of Homozygosity (F_{ROH})، ماتریس روابط خویشاوندی (F_{GRM})، میزان هموزیگوسیتی (F_{HOM}) و همبستگی گامت‌ها (F_{UNI}) تخمین زده می‌شود. این نکته قابل ذکر است که برخلاف سه روش F_{GRM}، F_{HOM} و F_{UNI} که برای برآورد هم‌خونی به فراوانی آللی وابسته هستند، برآوردهای مبتنی بر ROH به‌طور مستقیم منعکس‌کننده سطح هموزیگوسیتی است و تحت تأثیر فراوانی آللی قرار نمی‌گیرند (Almamun *et al.*, 2015).

امروزه در حیوانات اهلی به‌طور گسترده‌ای از قطعات ROH برای تعیین میزان هم‌خونی ژنومی استفاده شده است. این مطالعات تأکید می‌کند که بین مناطق ژنومی که در معرض انتخاب مداوم هستند و ROH شناسایی‌شده ارتباط نزدیکی وجود دارد (Eydivandi *et al.*, 2021). در حقیقت، در مناطق معرض انتخاب، تنوع مولکولی ژنتیکی کاهش یافته و به‌مرور جزایر هم‌خونی تشکیل می‌شود که هموزایگوسیتی بالاتری در مقایسه با سایر مناطق ژنوم دارند و در بین افراد یک نژاد شبیه هستند (Yurchenko *et al.*, 2018).

مطالعات مختلف پویش ژنومی با هدف شناسایی مناطق ژنومی و برآورد پارامترهای ژنتیکی مرتبط با کمیت و کیفیت تخم تولیدی با اهداف بهبود برنامه‌های اصلاح نژادی در اردک‌های نژاد پیکین انجام شده است (Oluwagbenga *et al.*, 2022; Kroger *et al.*, 2024; Zhou *et al.*, 2024). داده‌های مورد استفاده در این پژوهش اولین بار توسط ژو و همکاران (Zhou *et al.*, 2024) با هدف شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با صفت تولید تخم در سنین مختلف با استفاده از مطالعات پویش کل ژنومی (GWAS) در اردک‌های نژاد پیکین مورد آنالیز قرار گرفته بودند. در آن تحقیق از مدل‌های خطی مختلط تک نشانگری و از تصحیح بنفرونی برای تعیین آستانه معنی‌داری استفاده شده بود، در مجموع ۲۴۸ نشانگر تک نوکلئوتیدی معنی‌دار مرتبط با صفت مورد مطالعه گزارش شده است. با بررسی منابع انجام شده، مطالعات مرتبط با برآورد ضریب هم‌خونی ژنومی و الگوی هموزیگوسیتی در اردک بسیار معدود می‌باشد. با بررسی ضریب هم‌خونی ژنومی و شناسایی الگوهای هموزیگوسیتی در چهار نژاد اردک‌های چینی، میزان ضریب هم‌خونی ژنومی براساس ROH در نژادهای اردک Liancheng white، Shanma، Jinding و Putian blackبه‌ترتیب ۰/۱۴، ۰/۰۸، ۰/۱۳ و ۰/۰۶ گزارش شد. همچنین، جزایر ROH مشترک در بین چهار نژاد روی کروموزوم‌های شماره ۱، ۳ و ۲۱ قرار داشتند که بررسی بیولوژیکی ژن‌های موجود در این مناطق با ذخیره چربی، آداپتاسیون، رشد، اندازه بدن و تولیدمثل مرتبط بودند (Lin *et al.*, 2022). به تازگی، پژوهشی با هدف برآورد ضریب هم‌خونی ژنومی و شناسایی جزایر ROH روی نژادهای اردک Chaohu و Ji'an red کشور چین انجام شده است. این محققان گزارش کردند که میزان ضریب هم‌خونی برابر با ۰/۱۱۹و ۰/۱۴۴ به‌ترتیب در نژادهای اردک Chaohu و Ji'an red بود و بیشترین تعداد جزایر ROH روی کروموزوم‌های شماره ۲، ۱۰ و ۳۳ قرار داشتند (Lin *et al.*, 2024).

بنابراین، با توجه به اینکه در طی سال‌های گذشته، اردک نژاد پیکین تحت انتخاب‌های طبیعی و مصنوعی قرار گرفته است، احتمال می‌رود که بتوان، مناطقی از ژنوم این نژاد را شناسایی نمود که تحت انتخاب مثبت قرار گرفته بوده باشند. علاوه‌بر این، تا به امروز، هیچ پژوهشی در زمینه برآورد میزان ضرایب هم‌خونی ژنومی و شناسایی

1- Run of Homozygosity
2- ROH Island

جزایر ROH روی ژنوم اردک نژاد پیکین انجام نشده است. بنـابراین، هدف پژوهش حاضر، برآورد میزان هم‌خونی ژنومی و شناسایی توزیـع جزایر ROH در سـطح ژنـوم اردک‌هـای نـژاد پیکـین بـا اسـتفاده از اطلاعات نشانگرهای SNP موجود در سراسر ژنوم بود.

مواد و روش‌ها

در پژوهش حاضر از داده‌های توالی‌یابی‌شده کل ژنوم ۶۳۰ قطعـه اردک خالص نژاد پیکین استفاده شـد (Zhou *et al.*, 2024). تـوالی-یابی کل ژنوم به‌صورت paired-end توسـط شـرکت MGI به‌وسـیله پلتفرم DNBSEQ-T7 انجام شده بود. داده‌های تعیـین‌ژنوتیـپ‌شـده مورد استفاده در این پـژوهش در پایگـاه بـرخط Figshare بـه آدرس https://doi.org/10.6084/m9.figshare.25001777.v1 در دسترس می‌باشد. ابتدا نشانگرهای SNP شناسایی‌شده از ایندل جـدا شده و با استفاده از برنامه GATK (McKenna *et al.*, 2010) فیلتر شده بودند. سپس، بـا اسـتفاده از برنامـه PLINK (Purcell *et al.*, 2007)، SNPهای دو آللی با حداقل فراوانی آللی بزرگ‌تر یا مسـاوی با ۰/۰۱ کـه حـداقل در ۹۵ درصـد افـراد دارای ژنوتیـپ مشـخص و نشانگر SNP بودند، حفـظ شـده و مـابقی حـذف شـدند. در نهایـت، ۱۱۱۱۶۴۹ نشانگر SNP و ۵۸۱ قطعه اردک بعـد از مراحل مختلـف کنترل کیفیت باقی ماندند.

روش تخمین میزان هم‌خونی ژنومی

روش‌های تخمین میزان هم‌خونی ژنومی بـا اسـتفاده از دسـتور--homozyg در نرم‌افـــزار PLINK (نســـخه ۱/۹) Run Of Homozygosity تعریف شد. سپس، با استفاده از خروجـی نرم‌افـزار، برای هر فرد با استفاده از معادله ۱ در فواصل مشخص ROH مطابق روش پیشـنهادی ال–مـأمون و همکـاران (Al-Mamun *et al.*, 2015) محاسبه گردید.

$$l = \frac{\log_e\left(\frac{\alpha}{n_s . n_i}\right)}{\log_e(1 - het)}$$ معادله (۱)

که در آن، l: برابر با حداقل تعـداد SNPهـا در ROH، n_s: تعـداد SNPهای ژنوتیپ‌شده برای هر فـرد، n_i: تعـداد افـراد، het: میـانگین هتروزیگوسیتی تمام SNPها و α: درصد اشتباه مثبـت ROH (α در این مطالعه ۰/۰۵) است. در نهایـت، بـا اسـتفاده از معادلـه ۲ ضـریب هم‌خونی برای هر یک از نژادها براساس F_{ROH} برآورد شد.

$$F_{ROH} = \sum \frac{L_{ROH}}{L_{AUTO}}$$ معادله (۲)

که در آن، L_{ROH}: مجموع طول‌های ROH در ژنوم هر حیـوان و LAUTO: طول کل پوشش اوتوزوم‌ها است. میانگین تعـداد پوشـش ROH در فواصل و گروه‌بندی‌های کمتر از ۱، ۱–۲، ۲–۳ و ۳< مگا-باز برای هر فرد محاسبه شد.

شناسایی جزایر ROH

مناطق ژنومی مرتبط با قطعات ROH با بیشترین فراوانی در ژنوم به‌عنوان نقاط داغ ROH یـا جزایـر ROH در نظر گرفتـه می‌شـوند. بدین منظور، جزایر ROH با استفاده از نرم‌افزار PLINK (نسخه ۱/۹) با معیارهای زیر شناسایی شدند. حـداقل تعـداد SNP در ROH ۵۰ و حداقل طول هر ROH ۱۰۰ کیلو جفت‌باز در نظر گرفته شد. همچنین عنوان پیش‌فرض محاسبات، حداکثر یک هتروزیگوت در هر پنجـره و دو ژنوتیپ گم‌شده در محاسبه جزایر ROH منظور شد. برای شناسایی جزایر ROH از فایل‌های خروجی PLINK استفاده شـد، به‌طوری‌کـه تعداد دفعات ظهور SNP در ROH محاسبه و بر تعداد پرندگان تقسیم شد. یک درصد از SNP کـه بـالاترین ظهـور را در ROH داشـتند و براساس فایل MAP بر روی کروموزوم پشـت سـر هـم قـرار گرفتـه بودند به‌عنوان جزایر ROH در نظر گرفتـه شـد (Machová *et al.*, 2023).

محـدوده هرکـدام از جزایـر ROH در هـر کرومـوزوم براسـاس جدیدترین نسخه ژنوم مرجع اردک (*CAU_duck1.0*) مشخص شد و اطلاعات استخراج‌شده در طول کرومـوزوم‌هـا، بـا بسـته نـرم‌افـزاری qqman برنامه R ترسیم شدند. بـرای شناسـایی ژن‌هـای موجـود در محـدوده جزایـر ROH از پایگـاه اطلاعـاتی بـرخط Genes 112 Database Ensemble به‌وسـیله BioMart (www.ensembl.org/biomart) استفاده شد. جهت تعیـین طبقـات عملکردی ژنی و مسیرهای متابولیکی و تنظیمی ژن‌هـای معنـی‌دار از پایگـاه‌هـای اطلاعـاتی شـامل هستی‌شناسـی ژن (GO, /http://www.geneontology.org)، مسیرهای بیوشـیمیایی (KEGG, /http://www.genome.jp/kegg)، Panther (http://www.pantherdb.org)، BioCyc (http://www.BioCyc.org) و Reactome (http://www.reactome.org) در نرم‌افـزار آنلایـن DAVID (/https://davidbioinformatics.nih.gov) انجام گردیـد. ارتبـاط-های معنی‌دار مسیرهای عملکردی با صـفت تعـداد تخـم تولیـدی بـا استفاده از توزیع فـوق هندسـی و آمـاره Fisher's exact test مـورد آزمون قرار گرفت. برای تفسیر بهتر عملکرد ژن‌هـای به‌دسـت‌آمده از پایگـاه‌هـای اطلاعـاتی آنلایـن GeneCards (http://www.genecards.org) و UniProtKB (http://www.uniprot.org) استفاده شد.

نتایج و بحث

متوسط فراوانی آللـی نـادر، میـانگین ضـریب هم‌خـونی ژنـومی، حداقل و حداکثر در جدول ۱ ارائه شده است. برآورد فراوانی آلل نـادر،

به‌طور گسترده‌ای در مطالعات ژنتیک جمعیت مورد استفاده قرار می-گیرد، به‌دلیل اینکه اطلاعاتی در مورد تمایز بین واریانت‌های رایج و نادر در جمعیت فراهم می‌کند. متوسط فراوانی آلل نادر در حدود ۰/۲۶۱ به دست آمد که با نتایج پژوهش‌های پیشین هم‌خوانی دارد (Shen *et al.*, 2024). میانگین F_{ROH} به‌دست‌آمده در پژوهش حاضر برابر با ۰/۲۰۴ بود. حداقل و حداکثر F_{ROH} در نژاد پیکین به‌ترتیب ۰/۱۴۵ و ۰/۳۰ به دست آمد. ضریب هم‌خونی ژنومی در اردک‌های نژاد Kaijiang براساس روش F_{ROH} ۰/۱۰ برآورد شده است (Shen *et al.*, 2024). همچنین، در مطالعه‌ای، میزان ضریب هم‌خونی براساس شاخص F_{ROH} در مرغان نژاد Wenchang ۰/۰۵۶ گزارش شده است (Tian *et al.*, 2023). در مطالعه‌ای بر روی نژادهای مختلف اردک‌های اروپایی شامل Long-tailed و velvet scoter میزان F_{ROH} به‌ترتیب برابر با ۰/۰۶۳ و ۰/۰۴۷ گزارش شده است (Cádiz *et al.*, 2024). رویکردهای شدید انتخابی، جمعیت را از حالت تعادل هاردی–واینبرگ خارج و باعث افزایش هم‌خونی می‌شود که این حالت در مورد این نژاد بیشتر ملموس است. این نتایج نشان می‌دهد که اردک‌های نژاد پیکین دارای تنوع ژنتیکی پایینی بوده و اخیراً، هم‌خونی در آن‌ها اتفاق افتاده است و این ممکن است به‌دلیل آمیزش بالاتر بین افراد خویشاوند باشد.

جدول ۱– خلاصه میانگین حداقل فراوانی آللی و برآورد ضریب هم‌خونی با روش الگوی هموزیگوسیتی در اردک‌های نژاد پیکین

Table 1- Summary of Mean minor allele frequency and estimation of inbreeding coefficients with ROH in duck breed

نژاد Breed	متوسط فراوانی آللی نادر Minor Allele Frequency	ضریب هم‌خونی Inbreeding coefficient		
		حداکثر F_{ROH} $MaxF_{ROH}$	حداقل F_{ROH} $MinF_{ROH}$	میانگین F_{ROH} $AverageF_{ROH}$
پیکین Pekin	0.261	0.300	0.145	0.204

خلاصه تعداد و طول ROH در جدول ۲ ارائه شده است. در این مطالعه از مجموع تعداد ۸۲۲۵۳ ROH در اردک‌های نژاد پیکین با میانگین ۱۴۱ تعداد ROH و میانگین طول ۱/۵۱ مگاباز در هر پرنده مشاهده شد. همچنین در جدول ۳، تعداد قطعات هموزیگوت ژنومی همراه با درصد پوشش ژنومی آن‌ها در چهار فاصله گروه‌بندی ارائه شده است. بیش از ۷۸ درصد از ROHهای مشاهده‌شده، طول کمتر از دو مگاباز داشتند. ROH کوتاه‌تر نشان‌دهنده از بین رفتن تنوع ژنتیکی است. همچنین ROHهای طولانی به احتمال زیاد در مناطق با نوترکیبی پایین و مکان‌های تحت انتخاب در ژنوم یافت می‌شوند (Zhang *et al.*, 2015).

طول و فراوانی قطعات ROH می‌تواند تاریخچه، تنگه‌های ژنتیکی و همچنین، نشانه‌های انتخاب را در جامعه مورد نظر تعیین کند. در نتیجه، می‌توان گفت که آمیزش خویشاوندی در این نژاد رایج بوده است. مناطق هموزیگوت طولانی و توزیع ROH ناشی از جفت‌گیری افراد خویشاوند به فهم تاریخچه جمعیت کمک می‌نماید (Curik *et al.*, 2014).

علاوه‌بر این، مناطق ژنومی تحت فشارهای انتخابی زیاد، اغلب تنوع ژنتیکی کم و فراوانی هموزیگوسیتی را نشان می‌دهند. در مطالعاتی که الگوی تعداد قطعات ROH را در سطح ژنوم گونه‌های دیگر مورد بررسی قرار گرفته است، گزارش شد که انتخاب ژنتیکی ممکن است نقش مهمی در توزیع تعداد این قطعات در سطح ژنوم داشته باشد.

در شکل ۱، رابطه بین تعداد کل قطعات ROH و طول هر کروموزوم در هر پرنده را نشان می‌دهد. رابطه بین درصد پوشش ROHها و طول کروموزوم‌ها از الگوی خاصی پیروی نکردند، هرچند با کاهش طول کروموزوم‌ها، نسبت اندازه ROHها تا حدودی بالاتر رفت (شکل ۱). کمترین تعداد ROH در کروموزوم ۳۱ (۱۵۳ قطعه) یافت شد، درحالی‌که بیشترین تعداد ROH در کروموزوم شماره ۱ (۱۳۶۵۹ قطعه) مشاهده شد.

جدول ۲– خلاصه آمار تعداد مناطق و طول ROH در اردک‌های نژاد پیکین

Table 2- Summary of statistics on the number of ROH regions and Length of pekin breed duck

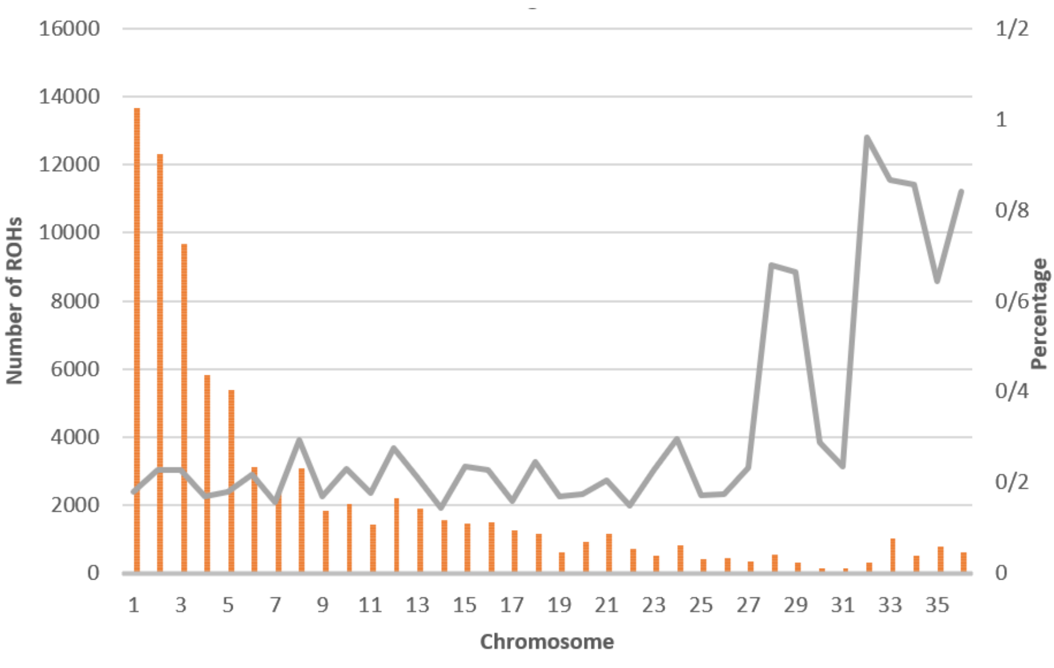
نژاد Breed	طول ROH (مگا باز) Length ROH			تعداد قطعاتROH Number of ROH		
	میانگین Average	حداکثر Max	حداقل Min	میانگین Average	حداکثر Max	حداقل Min
پیکین Pekin	1.51	19/58	0.503	141.5	298	1

جدول ۳- خلاصه آمار توصیفی تعداد قطعات همزیگوت ژنومی، طول قطعات و درصد پوشش ژنومی در چهار دسته‌بندی طولی

Table 3- Descriptive statistics of runs of homozygosity (ROH) numbers and lengths (in Mb) by ROH length classes

طول ROH ROH length (Mb)	تعداد ROH ROH number	درصد Percent (%)	میانگین طول Mean length (Mb)	پوشش ژنوم Genome coverage (%)
0-1	36920	44.89	0.704	40.66
1-2	27117	32.96	1.414	33.59
2-3	10304	12.53	2.450	14.09
3>	7912	9.62	4.556	11.66
مجموع Total	82253	100	1.510	100

بیشترین پوشش ROH در کروموزوم ۳۲ مشاهده شد، درحالی‌که کمترین آن در کروموزوم شماره ۲ بود که نشان می‌دهد کروموزوم‌های با پوشش ROH بالا ممکن است تحت تأثیر انتخاب مثبت قرار گرفته باشند که در نتیجه، تجمع آلل‌های مفید را در کروموزوم افزایش می‌دهد. به‌طور کلی، الگوهای توزیع ROH در این مطالعه نشان داد که هم‌خونی نژاد مورد مطالعه متناسب با سطح فشار انتخابی از نظر صفات اقتصادی و نیز سیستم‌های تولید و پرورش است. تعداد ROH در نژاد اردک پیکین به‌وضوح نسبت به سایر نژادها بزرگ‌تر است که به احتمال زیاد آمیزش بین افراد نزدیک و خویشاوند در نژاد پیکین بیشتر انجام شده است (Lin *et* Lin *et al.*, 2022 ; *al.*, 2024).



شکل ۱- توزیع تعداد کل ROHها و درصد پوشش هر کروموزوم در جمعیت اردک‌های نژاد پیکین

Figure 1- Distribution of the total number of ROHs and the percentage of coverage of each chromosome in the population of Pekin ducks

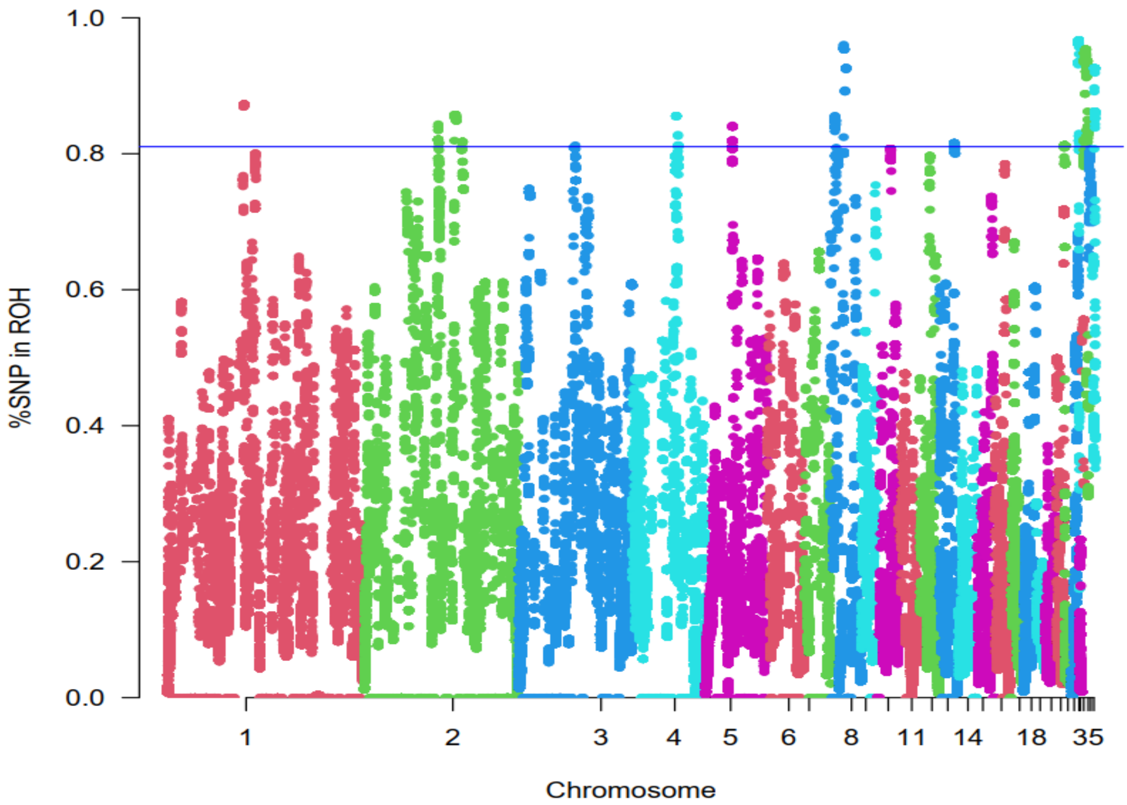
ستون‌های عمودی تعداد کل ROHها را در هر کروموزوم نشان می‌دهد و خط خاکستری درصد کروموزوم‌های پوشیده‌شده با ROH را نشان می‌دهد.

The vertical columns show the total number of ROHs per chromosome, and the gray line shows the percentage of chromosomes covered by ROH

برای بررسی‌های بیشتر یک درصد از نشانگرهای SNP با بیشترین ظهور در قطعات هموزایگوت ژنومی، به‌عنوان جزایر ROH در نظر گرفته شد. آستانه مشابهی در مطالعات مختلف گونه اردک و مرغ در نظر گرفته شده است (Lin *et al.*, Tian *et al.*, 2023 ; 2024). در این مطالعه، حد آستانه سختگیرانه‌تری برای انتخاب جزایر ROH منظور شد. به‌طور کلی، ۹۱ جزیره ROH با طول ۱/۶۳ تا ۱۳ مگاجفت‌بازی شناسایی شد که کمتر از سه درصد از ژنوم اردک بود. توزیع جزایر ROH در ژنوم یکنواخت نبود و بیشترین جزایر ROH

روی کروموزوم‌های شماره‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۸، ۱۳، ۲۹ و ۳۲ قرار داشت (شکل ۲). توزیع جزایر ROH در سراسر ژنوم به‌دلیل نوترکیبی، عدم تعادل پیوستگی و انتخاب یکسان نمی‌باشند. در مطالعه‌ای با هدف شناسایی جزایر ROH در اردک‌های نژاد Kaijiang در مجموع، ۱۶۸ جزیره ROH با طول ۳/۵–۲/۵ مگاجفت‌باز شناسایی شد که ۱۰ ژن در محدوده این جزایر قرار داشتند که بیشتر در ارتباط با متابولیسم بدن و تولید تخم بودند (Shen *et al*., 2024).

از نکات قابل توجه در این پژوهش این بود که روی کروموزوم‌های شماره ۲۲، ۲۴، ۲۶، ۲۷، ۳۰ و ۳۴ هیچ جزیره ROH یافت نشدند. این موضوع ناشی از آن است که ژن‌های اقتصادی مهم و QTLهای مرتبط با صفات رشد و تولید کمتر روی این کروموزوم‌ها قرار گرفته‌اند یا به‌دلیل ناقص بودن حاشیه‌نویسی ژنوم اردک هنوز شناسایی نشده‌اند. بیشتر جزایر ROH فراوان بر روی کروموزوم‌های شماره‌های ۸، ۲۹ و ۳۲ قرار گرفته‌اند (شکل ۲).



شکل ۲– پلات منهتن توزیع جزایر ROH بر روی کروموزوم‌های مختلف اردک‌های نژاد پیکین

Figure 2– Manhattan plot of the distribution ROH Island on different chromosomes in Pekin duck breed

خط ترسیم‌شده نشان‌دهنده یک درصد از SNPهایی که بالاترین ظهور را در کل ROH داشتند

The values above the line are in the 1% threshold of SNPs incidence in the total number of ROH

با توجه به اینکه داده‌های مورد استفاده در پژوهش حاضر مربوط به سویه تخم‌گذار اردک‌های نژاد پیکین بود، در نتیجه تجزیه و تحلیل عملکردی و مسیرهای هستی‌شناسی و بیوشیمیایی معنی‌دار مرتبط با فرآیند تولید تخم مورد بررسی دقیق‌تر انجام گردید که در این بخش بیشتر بحث می‌شود.

طبقات عملکردی مختلف هستی‌شناسی و مسیرهای بیوشیمیایی مرتبط با صفت تخم تولیدی در کل دوره تولید در جدول ۴ ارائه شده است. از مسیرهای هستی‌شناسی معنی‌دار مرتبط با تعداد تخم در غاز، مسیرهای تنظیم مثبت ترشح هورمون پپتیدی[1] و تنظیم فعالیت انتقال‌دهنده غشایی یون کلسیم[2] به دست آمد که جزء فرآیندهای زیستی می‌باشد. از میان ژن‌های کاندیدای موجود در این مسیرها، ژن‌های *CSMD1* و *FCHSD2* بیشترین ارتباط را با تولید تخم نشان دادند. در مطالعه‌ای که با هدف آنالیز ترانسکریپتوم در تخمدان و بخش‌هایی از اویدوکت (مگنوم، ایستموس و رحم) در طول زمان

1- Positive regulation of peptide hormone secretion
2- Regulation of calcium ion transmembrane transporter activity

تشکیل تخم‌مرغ انجام گرفته شده است، ژن *CSMD1* جزء ژن‌های کاندیدای معنی‌دار مرتبط با تشکیل آلبومین دارای fold change ۳/۲ بود (Chen *et al.*, 2021). همچنین ژن کاندیدای *FCHSD2* در بین ژن‌های این مجموعه ژنی قرار داشت و محصول این ژن، پروتئینی مرتبط با کانال کلسیمی است. این کانال با تغییر پتانسیل الکتریکی غشاء و یا با افزایش غلظت درون سلولی کلسیم باز شده و پتاسیم به درون سلول وارد می‌شود و سبب برقراری تعادل الکتریکی در دو طرف غشاء می‌شود (www.uniprot.org). در مطالعه‌ای با هدف شناسایی ژن‌های کاندیدای مرتبط با رشد در اردک‌های تخم‌گذار، ارتباط معنی‌داری از ژن *FCHSD2* گزارش شده است (Yang *et al.*, 2024).

مسیر معنی‌دار دیگر مرتبط با تعداد تخم تولیدی، مسیر سیگنال‌دهی مرتبط با سیتوکین[1] شامل ژن کاندیدای *COL1A2* بود. ژن *COL1A2* در فسفریله کردن گلیکوپروتئین‌ها و تشکیل استخوان در انسان و موش از طریق تفرق سلول‌های استئوبلاست نقش کلیدی دارد (Zhou *et al.*, 2020). در مطالعه سان و همکاران (Sun *et al.*, 2024) ارتباط معنی‌داری را بین ژن *COL1A2* با صفت تشکیل ماتریکس پوسته تخم‌مرغ در اردک‌های نژاد Longyan Shan-ma گزارش کردند.

از مسیرهای دیگر فرآیندهای زیستی معنی‌دار مرتبط با تعداد تولید تخم می‌توان به مسیرهای تنظیم مثبت رشد فیبر عضلانی اسکلتی[2] و تنظیم منفی کموتاکسی‌های منفی[3] اشاره کرد. از بین ژن‌های معنی‌دار در این مسیر، ژن‌های کاندیدای *MPP5* و *DAZAP1* در مطالعات قبلی در ارتباط با تولید تخم گزارش شده‌اند. ژن‌های خانواده MPP از جمله *MPP5* در هموستازی فیبرهای ماهیچه‌ای و ماتریکس خارج سلولی نقش مهمی ایفا می‌نمایند. همچنین، گزارش شده است که ژن‌های خانواده MPP می‌توانند با تخریب بافت‌های هم‌بند و کلاژنی اطراف فیبرهای ماهیچه‌ای موجب بازسازی ماتریکس خارج سلولی فیبرهای ماهیچه‌ای شوند (www.genecards.org). جایگاه ژنی *MPP5* جزء مکان‌های تحت انتخاب نژادهای مرغ مصری گزارش شده است (Walugembe *et al.*, 2019). همچنین، در مطالعه پویش ژنومی با هدف شناسایی ژن‌های کاندیدای مرتبط با تولید تخم در اردک‌های نژاد Shaoxing، ژن کاندیدای *DAZAP1* مرتبط با تعداد تولید تخم در سن ۶۶ هفتگی گزارش شده است (Xu *et al.*, 2022).

شاید بتوان مسیر پاسخ سلولی به محرک هورمونی[4] را یکی از مهم‌ترین مسیرهای مؤثر بر فرآیند تولید تخم اردک دانست. در این مسیر، پروتئین‌های هدف فسفریله می‌شوند. فسفریلاسیون پروتئین نقش مهمی در بسیاری از فرآیندهای سلولی دارد. از بین ژن‌های معنی‌دار در این مسیر مرتبط با وزن تخم می‌توان ژن *NSG1* را نام برد. ژن کاندیدای *NSG1* از جمله ژن‌های کاندیدای مرتبط با صفات تولید تخم است، به‌طوری‌که افزایش بیان ژن کلیدی *NSG1* در توسعه فولیکول تخمدانی و تخمک‌اندازی گزارش شده است. همچنین در مطالعه پویش ژنومی با هدف شناسایی ژن‌های کاندیدای مرتبط با تولید تخم در غازهای نژاد Lingxian white، ژن کاندیدای *NSG1* مرتبط با تعداد تولید تخم گزارش شده است (Zheng *et al.*, 2023).

با توجه به عملکرد بیولوژیکی ژن‌های کاندیدای شناسایی‌شده مرتبط با صفت تولید تخم در این پژوهش، به نظر می‌رسد که این ژن‌ها در بروز فنوتیپی صفت مورد پژوهش در اردک نژاد پیکین نقش ایفا می‌کنند. با بررسی چند شکلی موجود در ژن‌های کاندیدای شناسایی‌شده مرتبط با صفت تولید تخم از طریق مطالعات آزمایشگاهی مانند PCR-RFLP و PCR-SSCP در اردک پیکین و در صورت تأیید نتایج به‌دست‌آمده را برای مطالعات اصلاحی به کار برد. البته به‌دلیل اطلاعات ناقص مربوط به عملکرد ژن‌ها در گونه اردک و همچنین کوچک بودن جمعیت مورد استفاده در این مطالعه، مطالعات گسترده‌تر با تعداد نمونه‌های بیشتر و تجزیه و تحلیل چند جمعیت جداگانه، ادغام داده‌های تحقیقات مشابه جدید و استفاده از آنالیزهای آماری جامع‌تر درک بهتری از ژن‌های کاندید مرتبط با تولید تخم در جمعیت اردک ایجاد خواهد کرد. در مجموع، نتایج این تحقیق می‌توانند منابع اطلاعاتی با ارزشی در جهت شناسایی ژن‌های متمایزکننده و شناسایی نواحی ژنومی کاندیدا برای صفت مهم اقتصادی مورد مطالعه فراهم آورد.

1- Cytokine-mediated signaling pathway
2- Positive regulation of skeletal muscle fiber development
3- Negative regulation of negative chemotaxis
4- Cellular response to hormone stimulus

جدول ٤- تجزیه و تحلیل غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی معنی‌داری (P<0.05) مرتبط با صفت تولید تخم در اردک

Table 4- Gene set enrichment analysis significantly associated with egg production trait in duck (P < 0.05)

شناسه هستی‌شناسی GO ID	ترم هستی‌شناسی Term GO	تعداد ژن‌های موجود در مسیر No. genes in the GO term	ژن‌های مرتبط Related genes[1]	P–تصحیح‌شده P-adjust
فرآیند بیولوژیکی Biological process				
GO:0090277	Positive regulation of peptide hormone secretion	14	*LAMA2, LAMC2, ITGB3, ITGA2B, LAMB4, GP1BA, ITGB8, LAMA1, LAMB2,* ***CSMD1***	0.039
GO:0019221	Cytokine-mediated signaling pathway		*GAB2, FOXO1,* ***COL1A2****, VEGFA, MYC, ZC3H15 NOX3, FOXO1, FTO*	0.036
GO:1901019	Regulation of calcium ion transmembrane transporter activity	16	*LOC101803633, AKR1D1, SRD5A3, HSD11B2* ***FCHSD2****, SRD5A1, LOC101795569, LOC101803865, LOC101790812, THYN1*	0.048
GO:0030241	Negative regulation of negative chemotaxis	26	*EHHADH, ACOX3, SCD, ACSBG1, ACAD8, OXSM, ACSBG2, ACSL1, ACOX1, TECR, ACSL5, ACAT2, HACD1, FADS1, FADS2, SCD5, ELOVL2,* ***DAZAP1,***	0.017
GO:0051592	Positive regulation of skeletal muscle fiber development	36	*LOC101790524, ALDOB, ALDH7A1, ALDH18A1, ASL, MAT2B, ASS1,* ***MPP5****, CTH, PFKM, PFKL, AADAT, GAPDH, CPS1*	0.021
GO: 0043434	Response to a peptide hormone stimulus	18	***NSG1****, PRKAB2, G6PC2, PRKAR2A, PDE3B SH2B2, GYS2, SOCS4, TSC1, IKBKB, GSK3B, SORBS1, INSR, SOS1, PYGL, SHC4, MAP2K1*	0.023
GO:0044381	Glucose import in response to insulin stimulus	37	*PLA2G3, ENPP2, LA2G1B, PLB1, ENPP6, PLA2G4F, PLD4, PLA2G4B*	0.0209
اجزای سلولی Cellular component				
GO:0005886	Plasma membrane	43	*AVPR1B, CDH11, SVIL, CAMK1G, PRKCH, ANO4, GAB2, NOX3, PKP4, PDCD10, PCDH1, CPNE4, CDH8, DLGAP1, PRKG1, MARK1, NLK, NKAIN4, PIP4K2A, SHROOM2, MYH10, CLDN2*	0.045
عملکرد مولکولی Molecular Function				
GO:0005515	Protein binding	95	*CPNE4, ETS1, PRKCH, INTS4, NR4A2, MSI2, EBF1, EPHA10, RTEL1, BICD2, TJAP1, NMUR2, EXOC5, GLRA1, CCDC174, PTPRG, ARHGAP32, PRLHR, CMTM6, CMTM7*	0.023
GO:0003700	DNA-binding transcription factor activity	13	*TGIF2, BMPR1A, BAMBI*	0.049

[1] ژن‌های اصلی مرتبط با صفت به‌صورت پررنگ نشان داده شده‌اند.

[1] Main genes associated with trait are shown in bold.

نتیجه‌گیری کلی

در این پژوهش، میزان هم‌خونی ژنومی با استفاده از توالی‌یابی کل ژنوم در اردک‌های نژاد پیکین مورد بررسی قرار گرفت. برآورد میانگین ضریب هم‌خونی ژنومی براساس الگوی هموزیگوسیتی ۰/۲۱ برآورد گردید. قطعات طولانی ROH در این نژاد، نشانگر هم‌خونی اخیر است. به نظر می‌رسد که انتخاب برای صفات اقتصادی مهم منجر به تشکیل جزایر ROH در اطراف نواحی هدف انتخاب می‌گردد، ازاین‌رو، پویش ژنومی این جزایر می‌تواند به‌عنوان رویکرد جایگزین برای شناسایی ژن‌ها و جایگاه‌های مرتبط با صفات مهم اقتصادی مورد توجه قرار گیرد.

References

1. Addo, S., Klingel, S., Thaller, G., & Hinrichs, D. (2021). Genetic diversity and the application of runs of homozygosity-based methods for inbreeding estimation in German White-headed Mutton sheep. *PLoS One*, *16*, e0250608. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0250608
2. Almamun, H. A., Clark, S. A., Kwan, P., & Gondro, C. (2015). Genome-wide linkage disequilibrium and genetic diversity in five populations of Australian domestic sheep. *Genetic Selection Evolution*, *47*, 90. https://doi.org/10.1186/s12711-015-0169-6
3. Cádiz, M. I., Tengstedt, A. N. B., Sørensen, I. H., Pedersen, E. S., Fox, A. D., & Hansen, M. M. (2024). Demographic history and inbreeding in two declining sea duck species inferred from whole-genome sequence data. *Evolutionary Applications*, *17*(9), e70008. https://doi.org/10.1111/eva.70008
4. Chen, X., Sun, X., Chimbaka, I. M., Qin, N., Xu, X., Liswaniso, S., Xu, R., & Gonzalez, J. M. (2021). Transcriptome analysis of ovarian follicles reveals potential pivotal genes associated with increased and decreased rates of chicken egg production. *Frontiers in Genetics*, *12*, 622751. https://doi.org/10.3389/fgene.2021.622751
5. Curik, I., Ferenčaković, M., & Sölkner, J. (2014). Inbreeding and runs of homozygosity: A possible solution to an old problem. *Livestock Science*, *166*, 26-34. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.05.034
6. Eydivandi, S., Roudbar, M. A., Karimi, M. O., & Sahana, G. (2021). Genomic scans for selective sweeps through haplotype homozygosity and allelic fixation in 14 indigenous sheep breeds from Middle East and South Asia. *Scientific Reports*, *11*(1), 2834. https://doi.org/10.1038/s41598-021-82625-2
7. Gomez-Raya, L., Rodríguez, C., Barragán, C., & Silió, L. (2015). Genomic inbreeding coefficients based on the distribution of the length of runs of homozygosity in a closed line of Iberian pigs. *Genetic Selection Evolution*, *47*,81. https://doi.org/10.1186/s12711-015-0153- 1
8. Kroger, C. A., Lee, W., Fraley, G. S., Brito, L. F., & Karcher, D. (2024). Genetic parameters for egg quality traits in Pekin ducks. *Poulty Science*, *103*(12), 104264. https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.104264 . Epub ahead of print.
9. Li, T., Wang, Y., Zhang, Z., Ji, C., Zheng, N., & Huang, Y. (2024). A comparative analysis reveals the genomic diversity among 8 Muscovy duck populations. *G3 (Bethesda)*, *14*(7), jkae112. https://doi.org/10.1093/g3journal/jkae112
10. Lin, R., Li, J., Yang, Y., Yang, Y., Chen, J., Zhao, F., & Xiao, T. (2022). Genome-wide population structure analysis and genetic diversity detection of four Chinese indigenous duck breeds from Fujian province. *Animals (Basel)*, *12*(17), 2302. https://doi.org/10.3390/ani12172302
11. Lin, R., Li, H., Lin, W., Yang, F., Bao, X., Pan, C., Lai, L., & Lin, W. (2024). Whole-genome selection signature differences between Chaohu and Ji'an red ducks. *BMC Genomics*, *25*(1), 522. https://doi.org/10.1186/s12864-024-10339-6
12. Liu, H., Wang, L., Guo, Z., Xu, Q., Fan, W., Xu, Y., Hu, J., Zhang, Y., Tang, J., Xie, M., Zhou, Z., & Hou, S. (2021a). Genome-wide association and selective sweep analyses reveal genetic loci for FCR of egg production traits in ducks. *Genetic Selection Evolution*, *53*(1), 98. https://doi.org/10.1186/s12711-021-00684-5
13. Liu, J., Shi, L., Li, Y., Chen, L., Garrick, D., Wang, L., & Zhao, F. (2021b). Estimates of genomic inbreeding and identification of candidate regions that differ between Chinese indigenous sheep breeds. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, *12*(1), 95. https://doi.org/10.1186/s40104-021-00608-9
14. Machová, K., Marina, H., Arranz, J. J., Pelayo, R., Rychtářová, J., Milerski, M., Vostrý, L., & Suárez-Vega, A. (2023). Genetic diversity of two native sheep breeds by genome-wide analysis of single nucleotide polymorphisms. *Animal*, *17*(1), 100690. https://doi.org/10.1016/j.animal.2022.100690 . Epub 2022 Dec 1
15. McKenna, A., Hanna, M., Banks, E., Sivachenko, A., Cibulskis, K., Kernytsky, A., Garimella, K., Altshuler, D., Gabriel, S., & Daly, M. (2010). The genome analysis toolkit: A MapReduce framework for analyzin next-generation DNA sequencing data. *Genome Research*, *20*, 1297–1303. https://doi.org/10.1101/gr.107524.110 . Epub 2010 Jul 19
16. Oluwagbenga, E. M., Tetel, V., Schober, J., & Fraley, G. S. (2022). Chronic heat stress part 1: Decrease in egg quality, increase in cortisol levels in egg albumen, and reduction in fertility of breeder Pekin ducks. *Frontiers in*

Physiology, *13*, 1019741. https://doi.org/10.3389/fphys.2022.1019741
17. Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. A., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., de Bakker, P. I., & Daly, M. J. (2007). PLINK: A tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *The American Journal of Human Genetics*, *81*, 559–575. https://doi.org/10.1086/519795
18. Shen, Z., Zhang, T., Twumasi, G., Zhang, J., Wang, J., Xi, Y., Wang, R., Wang, J., Zhang, R., & Liu, H. (2024). Genetic analysis of a Kaijiang duck conservation population through genome-wide scan. *British Poultry Science*, *65*(4), 378-386. https://doi.org/10.1080/00071668.2024.2335937
19. Sun, Y., Li, Y., Jiang, X., Wu, Q., Lin, R., Chen, H., Zhang, M., Zeng, T., Tian, Y., Xu, E., Zhang, Y., & Lu, L. (2024). Genome-wide association study identified candidate genes for egg production traits in the Longyan Shan-ma duck. *Poultry Science*, *103*(9), 104032. https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.104032 . Epub 2024 Jun 27
20. Tian, S., Tang, W., Zhong, Z., Wang, Z., Xie, X., Liu, H., Chen, F., Liu, J., Han, Y., Qin, Y., Tan, Z., & Xiao, Q. (2023). Identification of runs of homozygosity islands and functional variants in Wenchang chicken. *Animals (Basel)*, *13*(10), 1645. https://doi.org/10.3390/ani13101645
21. Walugembe, M., Bertolini, F., & Dematawewa, C. M. B. (2019). Detection of selection signatures among Brazilian, Sri Lankan, and Egyptian chicken populations under different environmental conditions. *Frontiers in Genetics*, *9*, 737. https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00737
22. Xu, W., Wang, Z., Qu, Y., Li, Q., Tian, Y., Chen, L., Tang, J., Li, C., Li, G., Shen, J., Tao, Z., Cao, Y., Zeng, T., & Lu, L. (2022). Genome-wide association studies and haplotype-sharing analysis targeting the egg production traits in Shaoxing duck. *Frontiers in Genetics*, *13*, 828884. https://doi.org/10.3389/fgene.2022.828884
23. Yang, Z., Xi, Y., Qi, J., Li, L., Bai, L., Zhang, J., Lv, J., Li, B., & Liu, H. (2024). Genome-wide association studies reveal the genetic basis of growth and carcass traits in Sichuan Shelduck. *Poultry Science*, *103*(11), 104211. https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.104211 . Epub 2024 Aug 14
24. Yu, J. Z., Zhou, J., Yang, F. X., Hao, J. P., Hou, Z. C., & Zhu, F. (2024). Genome-wide association analysis identifies important haplotypes and candidate gene *XKR4* for body size traits in Pekin ducks. *Animals (Basel)*, *14*(16), 2349. https://doi.org/10.3390/ani14162349
25. Yurchenko, A. A., Daetwyler, H. D., & Yudin, N. (2018). Scans for signatures of selection in Russian cattle breed genomes reveal new candidate genes for environmental adaptation and acclimation. *Scientific Reports*, *8*, 12984. https://doi.org/10.1038/s41598-018-31304-w
26. Zhang, Q., Guldbrandtsen, B., Bosse, M., Lund, M. S., & Sahana, G. (2015). Runs of homozygosity and distribution of functional variants in the cattle genome. *BMC Genomics*, *16*(1), 542. https://doi.org/10.1186/s12864-015-1715-x
27. Zheng, S., Ouyang, J., Liu, S., Tang, H., Xiong, Y., Yan, X., & Chen, H. (2023). Genomic signatures reveal selection in Lingxian white goose. *Poultry Science*, *102*(1), 102269. https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.102269 . Epub 2022 Oct 21
28. Zhou, J., Yu, J. Z., Zhu, M. Y., Yang, F. X., Hao, J. P., He, Y., Zhu, X. L., Hou, Z. C., & Zhu, F. (2024). Genome-wide association analysis and genetic parameters for egg production traits in Peking ducks. *Animals (Basel)*, *14*(13), 1891. https://doi.org/10.3390/ani14131891
29. Zhou, Z., Li, M., Cheng, H., Fan, W., Yuan, Z., & Gao, Q. (2018). An intercross population study reveals genes associated with body size and plumage color in ducks. *Nature Communications*, *9*, 2648. https://doi.org/10.1038/s41467-018-04868-4
30. Zhou, S., Ma, Y., Zhao, D., Mi, Y., & Zhang, C. (2020). Transcriptome profiling analysis of underlying regulation of growing follicle development in the chicken. *Poultry Science*, *99*(6), 2861-2872. https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.12.067 . Epub 2020 Mar 19
31. Zhu, F., Cui, Q. Q., Yang, Y. Z., Hao, J. P., Yang, F. X., & Hou, Z. C. (2020). Genome-wide association study of the level of blood components in Pekin ducks. *Genomics*, *112*(1), 379-387. https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2019.02.017